

# FORMULASI SEDIAAN EKSTRAK ETANOL BIJI KAKAO (*Theobroma cacao* L.) SEBAGAI KANDIDAT NATURAL ANTIOXIDANT MELALUI TEKNOLOGI MIKROENKAPSULASI DENGAN METODE *SPRAY-DRYING*

Dewi Purwaningsih<sup>1)</sup>, Whyllies Agung A.B<sup>1)</sup>, Ireno Megaputera<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar

Email: dewy.licious@yahoo.co.id

## Abstract

*A research concerning microencapsulation of cacao beans extract by spray drying method with maltodextrin and gum arabic as coating material had been done. The research was aimed to obtain microcapsule formula of cacao bean extract with the best physical characteristic as a natural antioxidant candidate. Microcapsules were prepared by the spray-drying method with a concentration ratio of coating (maltodextrin : gum arabic) and extract. The results showed that the morphology of the microcapsules are spherical concave shaped irregularly. Size distribution shows an average diameter of each of the four formula are the formula I (337  $\mu$ m), II (356  $\mu$ m), III (354  $\mu$ m), IV (371  $\mu$ m), V (383  $\mu$ m) and the formula VI (356  $\mu$ m). Results of quantitative analysis showed that the concentration of total polyphenols (equivalent gallat acid) that trapped in the microcapsules with entrapment efficiency of each are formula I (11.38%), II (11.39%), III (13.77%), IV (10.14%), V (9.59%) and VI (8.80%). The conclusion of this study is the preparation of microcapsules with cacao bean extract with spray-drying method of the sixth formula has good physical characteristics, with the highest entrapment efficiency in this study is the formula III as well as the highest percentage of dissolution in the 60<sup>th</sup> minutes.*

**Keyword:** Microencapsulation, Cacao Bean Extract, Spray-Drying Method

## 1. PENDAHULUAN

Kakao merupakan salah satu komoditas ekspor yang mampu memberikan kontribusi di dalam upaya peningkatan devisa Indonesia. Komoditas kakao menempati peringkat ke tiga ekspor sektor perkebunan dalam menyumbang devisa negara. Iklim dan kontur tanah Indonesia (terutama di Sulawesi dan Sumatera) sangat sesuai untuk pengembangan tanaman kakao (Suryani, 2007). Jenis tanaman kakao yang diusahakan sebagian besar adalah jenis kakao lindak dengan sentra produksi utama adalah Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara dan Sulawesi Tengah (Kom. Persaingan usaha, 2005).

Biji kakao (*Theobroma cacao*) mengandung senyawa flavonoid seperti katekin, prosianidin, dan antosianidin yang dapat berfungsi sebagai antioksidan (Hammerstone, Lazarus, & Schmitz, 2000). Menurut Kim & Keeney, Biji kakao memiliki kandungan fenolik yang tinggi yaitu antara 12-18% (berat kering) pada biji yang tidak difermentasi. Sedangkan, kandungan polifenol dalam “chocolate” sebagai produk kakao yang

paling banyak dikonsumsi, secara signifikan jumlahnya lebih rendah yaitu 1,7-8,4 mg/g pada “dark chocolate” dan lebih rendah lagi pada susu coklat sekitar 0,7-5 mg/g. Dreosti (2000) melaporkan bahwa 60% dari total fenolik pada biji kakao mentah adalah monomer flavanol (epikatekin dan katekin) dan oligomer procyanidin (dimer hingga decamer). Komponen senyawa ini dilaporkan menjadi kandidat yang berpotensi sebagai *perlawanan terhadap radikal bebas* yang berbahaya bagi tubuh.

Kapasitas antioksidan pada biji kakao lebih tinggi bila dibandingkan dengan anggur, teh hijau, dan teh hitam (Lee, Kim, Lee, & Lee, 2003). Arts *et al*, melaporkan bahwa kakao mengandung katekin (kelompok senyawa flavan-3-ol) pada konsentrasi rata-rata 0,535 mg/g atau 4 kali lipat dari kandungan pada teh (139 mg/L). Menurut penelitian yang dilakukan Wan. *et al* (2001) bahwa flavonoid menghambat oksidasi LDL dan mengurangi tendensi trombotik secara *in vitro*. Hasil dari studi Ruzaidi *et al*, menunjukkan bahwa ekstrak polifenol kakao memiliki potensial sebagai *hypoglycaemic agent*.

Produk kakao pada umumnya yang beredar seperti *dark chocolate*, *milk chocolate* berasal dari biji kakao yang telah difermentasi. Fermentasi dari biji kakao segar, meskipun dilakukan untuk memperoleh aroma khas kakao, ternyata cenderung mengurangi jumlah kandungan senyawa polifenol tersebut. Temperatur yang tinggi dan lamanya waktu pemanggangan akan mengurangi jumlah polifenol pada kakao. Degradasi tersebut terjadi

Kekurangan dari ekstrak polifenol biji kakao memiliki rasa yang sangat sepat dan pahit, sehingga penggunaannya pada makanan atau dalam pengobatan oral kurang diterima dari segi rasa oleh konsumen, maka untuk mengatasi kelemahan tersebut dapat dikembangkan sistem pemberian secara enkapsulasi (Munin, 2011).

Mikroenkapsulasi adalah suatu proses dimana bahan-bahan padat, cairan bahkan gas pun dapat dijadikan kapsul (encapsulated) dengan ukuran partikel mikroskopik, dengan membentuk salutan tipis wall (dinding) sekitar bahan yang akan dijadikan kapsul (Ansel, 2007). Pembentukan mikrokapsul dengan metode semprot-kering (Spray-drying) terjadi ketika larutan atau suspensi yang mengandung bahan aktif diatomisasi atau disemprotkan pada ruang pengering, dan mikropartikel yang terbentuk sebagai droplet atomisasi dikeringkan dengan gas pembawa yang dipanaskan (Munin, 2011).

Berdasarkan uraian di atas, maka penulis berinisiatif untuk melakukan penelitian mengenai formulasi sediaan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai kandidat *natural antioxidant* melalui teknologi mikroenkapsulasi dengan metode *Spray-Drying*.

#### *Perumusan Masalah*

Apakah teknologi mikroenkapsulasi dapat menghasilkan sediaan mikrokapsul dari ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan karakter fisik yang baik berdasarkan variasi perbandingan konsentrasi inti dan konsentrasi penyalut yang digunakan menggunakan metode Semprot-kering (Spray-Drying)?

#### *Tujuan*

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan sediaan ekstrak etanol biji kakao (*Theobroma cacao*) dengan karakteristik fisik

baik secara oksidasi enzimatis dan nonenzimatis yang terjadi selama proses pabrikan (Wollgast, 2000). Oleh karena itu, produk kakao yang beredar memiliki kadar polifenol yang cukup rendah. Salah satu cara diversifikasi untuk memperoleh kadar polifenol yang tinggi dari kakao yaitu dengan melakukan ekstraksi dari biji kakao yang tidak difermentasi kemudian dibuat menjadi berbagai bentuk sediaan.

yang baik sebagai kandidat *natural antioxidant* melalui teknologi mikroenkapsulasi.

#### *Kegunaan*

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan teori ilmiah mengenai pemanfaatan senyawa bahan alam yang berasal dari biji kakao (*Theobroma cacao*) sebagai antioksidan alami
2. Sebagai landasan selanjutnya untuk pengembangan formulasi sediaan dari senyawa bahan alam dalam upaya pengobatan

## **2. METODE**

### **Alat dan Bahan yang digunakan**

Alat yang digunakan spray-dryer (LabPlant®), kain saring, mesin penghalus (blender), alat uji disolusi (Erweka DT4), pH meter (Jenway 3010), neraca analitik (Sartorius®), sieve analyzer (Retsch®), *fruit dehydrator* (Metrowealth®), Mikroskop Optik, rotavapor (Ika® RV 10 basic), homogenizer (Ultra Turax®T50 Ika®werve), cawan petri, piknometer, Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu® UV-1800), *Scanning Electron Microscopy* (Vega3 Tescan®), *Fine Coater* (Quantum®) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan yang digunakan adalah biji kakao (*Theobroma cacao* L.) yang diperoleh dari kabupaten Enrekang-Sulawesi Selatan, air suling, aseton, etanol 70% (OneMed®), n-heksan, gom arab (Brataco®), maltodextrin, etanol p.a (Merck®), parafin cair, asam gallat (Sigma®), reagen Folin-ciocalteu (Sigma®), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dan bahan untuk evaluasi sediaan.

### **Metode Kerja**

#### *Ekstraksi Biji Kakao*

Sampel biji yang telah kering ditimbang lalu dimasukkan ke dalam labu alas

bulat dan ditambah dengan pelarut n-heksan, diekstraksi dengan metode refluks selama 3-4 jam, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak n-heksan (lemak kakao) dan ampas. Ampas ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan sampel:pelarut = 1:5 kemudian dimaserasi selama 3-5 hari. Hasil maserasi dikumpulkan kemudian diuapkan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol biji kakao. Ekstrak tersebut lalu dimasukkan ke dalam eksikator. (Lewerissa, 2011)

#### *Mikroenkapsulasi Ekstrak Biji Kakao* (Sugindro, 2008)

Pembuatan mikrokapsul dilakukan dengan variasi konsentrasi enkapsulan dan perbandingan ekstrak biji kakao dengan enkapsulan dengan menggunakan metode *Spray drying*. Enkapsulan yang digunakan adalah maltodextrin dan gom arab.

Metode *spray drying* yang digunakan, diadopsi dari metode Sugindro *et al.* (2008) yang telah dimodifikasi. Bahan-bahan enkapsulan disuspensikan dalam aquadest dengan konsentrasi 20%, kemudian ditambahkan ekstrak biji kakao dan direhidrasi pada suhu 10-12°C selama 12 jam. Campuran dihomogenasikan dengan homogenizer pada kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya, campuran dikeringkan dengan *spray dryer*, dengan suhu inlet 160-180°C dan suhu outlet 70-80°C.

#### *Evaluasi Sediaan*

##### *Scanning electron microscopy*

Bentuk dan morfologi permukaan mikrokapsul diamati dengan *scanning electron microscopy*. Mikrokapsul di coating dengan

logam emas menggunakan *fine coater* (Quantum®), di bawah vakum dan sampel diuji dengan *scanning electron microscopy* (Vega3 Tescan®).

##### *Sieve analysis*

Distribusi ukuran partikel dievaluasi menggunakan *sieve shaker* (*Sieving Machine, Retsch, Germany*). Suatu seri dari lima ayakan standar *analyzer* dengan no ayakan 20, 40, 60 dan 80 yang disusun secara menurun dari ukuran lubang ayakan yang paling besar. Lima gram mikrokapsul ditempatkan dalam ayakan dan mesin pengayak dijalankan selama 10 menit. Masing-masing fraksi dalam ayakan ditimbang, dan dilakukan tiga kali tiap formula.

##### *Penentuan kandungan polifenol*

Mikrokapsulas digerus dan dilarutkan dalam metanol dalam labu takar. Sisa dinding mikrokapsul yang tidak larut dipisahkan dengan penyaringan. Filtrat yang diperoleh diukur serapannya dengan spektrofotometer UV dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dengan standar baku asam gallat dan kandungan biji kakao dalam mikrokapsul dapat ditentukan dengan menggunakan persamaan dari kurva kalibrasi asam gallat dalam air.

##### *Uji disolusi secara in vitro*

Pada evaluasi ini ditentukan profil disolusi dari ekstrak biji kakao maupun mikrokapsul biji kakao menggunakan alat disolusi tipe 2 (dayung) dalam volume medium 900 ml pada suhu 37±0,5°C, dengan kecepatan putaran pengaduk adalah 100 rpm. Pengambilan alikot dilakukan pada menit ke- 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, dan 360. Sampel dianalisa menggunakan metode spektrofotometri UV .

Tabel 1. Formula Mikrokapsul

Kode Formula	Penyalut/Enkapsulan		Ekstrak
	%	Gom Arab : Maltodekstrin	
F-1	15	1:1	3 %
F-2		2:3	
F-3		3:2	
F-4	20	1:1	
F-5		2:3	
F-6		3:2	

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

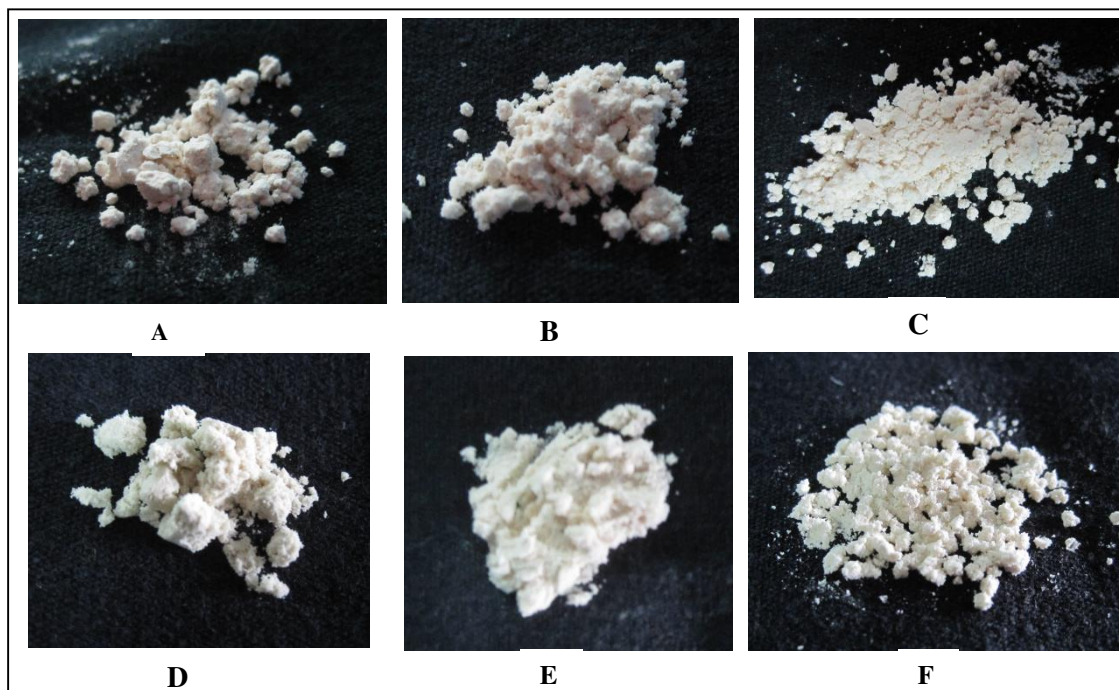
Tahap awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah mengekstraksi biji kakao, dikarenakan kandungan lemaknya yang tinggi maka proses ekstraksi biji kakao dilakukan dengan 2 tahap yaitu tahap pertama ekstraksi dengan pelarut heksan untuk mengurangi kadar lemaknya kemudian tahap kedua ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Rendamen ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi adalah 11,76 %b/b.

Metode *spray-drying* dapat digunakan untuk bahan dengan kestabilan fisik yang cukup rendah oleh karena terbentuknya lapisan film yang mengelilingi droplet dan pemanasan droplet hanya terjadi dalam beberapa detik saja sehingga suhu pemanasan di luar droplet tidak merusak material inti. Pada penelitian ini, digunakan penyalut maltodekstrin dan gom arab sebagai matriks pembentuk dinding mikrokapsul. Jaringan matriks ini penting dalam sistem dinding, sehingga walaupun kekentalan emulsi cenderung menurun, dengan sifat jaringan matriks maltodekstrin yang baik dalam sistem dinding dan juga sifat gom arab

yang baik dalam emulsifier serta membentuk lapisan film, maka kondisi ekstrak tetap dapat dipertahankan.

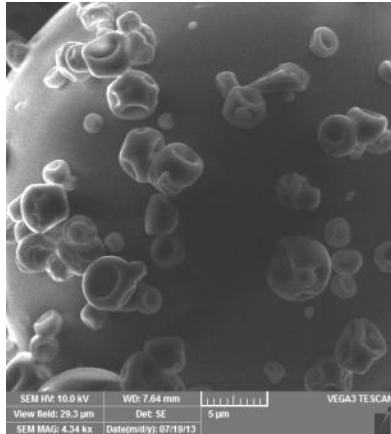
Hasil pengamatan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), menunjukkan morfologi mikrokapsul yang berbentuk bulat namun tidak *spheris* sempurna atau cekung di permukaannya untuk tiap formula. Pada keseluruhan formula, mikrokapsul yang diperoleh memiliki bentuk yang beragam dengan permukaan mikrokapsul yang halus. Hasil *Scanning Electron Microscopy* lebih jelas dapat dilihat pada gambar 2.

Melalui proses *Spray-Drying*, terjadi penguapan pelarut, sehingga matriks yang telah menyerap air, kehilangan kandungan air. Akibatnya terbentuk cekungan pada permukaan luar mikrokapsul. Hal ini umum terjadi polimer penyalut yang berasal dari polisakarida. Hal ini terkait dengan sifat polisakarida dengan berat molekul gula yang tinggi. Semakin besar berat molekul gulanya, maka kemampuan polimer itu untuk berfungsi



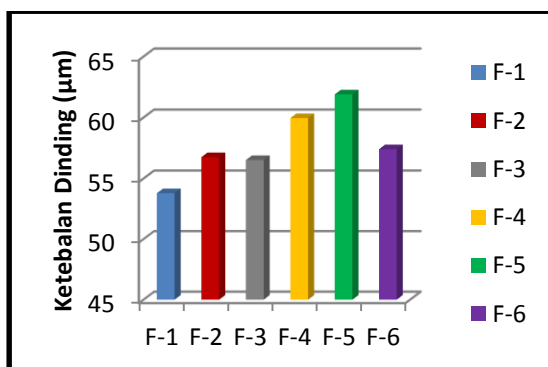
Gambar 1. Mikrokapsul yang Diperoleh Menggunakan Metode *Spray-Drying*. (A) Formula I; (B) Formula II; (C) Formula III; (D) Formula IV; (E) Formula V; (F) Formula VI

sebagai *plasticizer* suatu bahan dapat mencegah penyusutan volume suatu partikel. Sifat *plasticizer* suatu bahan dapat mencegah penyusutan volume suatu partikel.



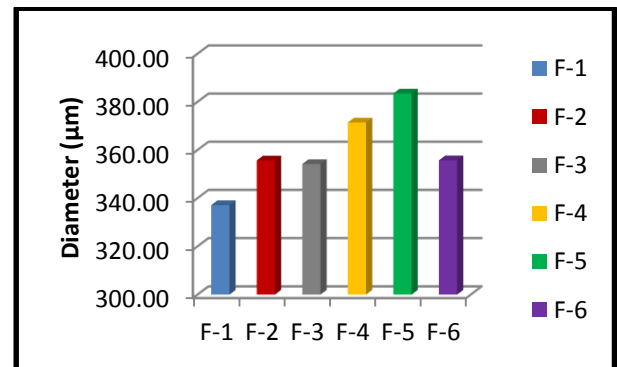
Gambar 2. Hasil SEM mikrokapsul ekstrak biji kakao

Distribusi ukuran partikel dari keempat formula berada dalam kisaran 337 sampai 383 mikrometer dengan diameter rata-rata untuk keenam formula masing-masing adalah formula I (337  $\mu\text{m}$ ), II (356  $\mu\text{m}$ ), III (354  $\mu\text{m}$ ), IV (371  $\mu\text{m}$ ), V (383  $\mu\text{m}$ ) dan formula VI (356  $\mu\text{m}$ ). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa diameter mikrokapsul dari semua formula berada dalam rentang ukuran mikrokapsul yaitu 1-1000  $\mu\text{m}$  sesuai dengan pustaka. Ketebalan dinding mikrokapsul berdasarkan hasil perhitungan dari keenam formula masing-masing adalah formula I (54  $\mu\text{m}$ ), II (57  $\mu\text{m}$ ), III (57  $\mu\text{m}$ ), IV (60  $\mu\text{m}$ ), V (62  $\mu\text{m}$ ) dan VI (57  $\mu\text{m}$ ).



Perhitungan efisiensi penyerapan dilakukan dengan membandingkan kadar polifenol total

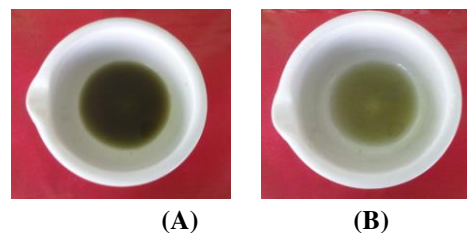
Gambar 3. Histogram ketebalan dinding



Gambar 4. Histogram diameter

Proses identifikasi kandungan polifenol secara kualitatif pada mikrokapsul dengan penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  memperlihatkan perubahan warna filtrat menjadi hijau biru dengan penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  yang menandakan positif mengandung senyawa polifenol, perubahan warna terjadi karena polifenol dapat mereduksi besi (III) menjadi besi (II). Hasil uji identifikasi warna dapat dilihat pada gambar 5.

Hasil penentuan kandungan polifenol menunjukkan bahwa dalam mikrokapsul mengandung polifenol total (setara asam gallat) masing-masing tiap formula adalah formula I sebanyak 2,39 %b/b, formula II sebanyak 2,40 %b/b, formula III sebanyak 2,9 %b/b, formula IV sebanyak 2,13 %b/b, formula V sebanyak 2,02 %b/b dan formula VI sebanyak 1,85 %b/b serta kadar polifenol total pada ekstrak sebanyak 21,04%b/b. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2.



Gambar 5. Hasil Uji kualitatif Polifenol Menggunakan  $\text{FeCl}_3$  pada (A)Ekstrak; (B) Mikrokapsul

yang terkandung dalam tiap gram mikrokapsul terhadap kadar polifenol total yang terkandung

dalam tiap gram ekstrak biji kakao. Hasil perhitungan efisiensi penjerapan dari keempat formula mikrokapsul berada dalam kisaran 8-13% dengan persentase rata-rata untuk masing-masing formula adalah formula I (11,38%),

formula II (11,39%), formula III (13,77%) formula IV (10,14%), formula V (9,59%) dan formula VI (8,80%).

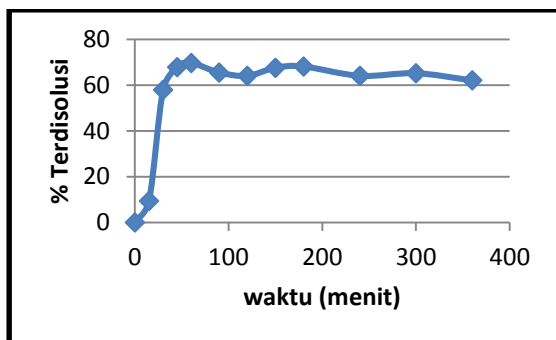
Tabel 2. Kadar Polifenol dalam Ekstrak Biji Kakao dan Tiap Formula Mikrokapsul

Formula	Serapan	Kandungan Polifenol (µg/ml)	%b/b	% Penjerapan
Ekstrak	0,810	20,671	20,67	
	0,816	20,843	20,84	
	0,843	21,616	21,62	
<b>rata-rata</b>	<b>0,823</b>	<b>21,044</b>	<b>21,04</b>	
F I	0,667	16,577	2,37	11,25
	0,673	16,749	2,39	11,37
	0,680	16,950	2,42	11,51
<b>rata-rata</b>	<b>0,673</b>	<b>16,759</b>	<b>2,39</b>	<b>11,38</b>
F II	0,668	16,606	2,37	11,27
	0,675	16,806	2,40	11,41
	0,679	16,921	2,42	11,49
<b>rata-rata</b>	<b>0,674</b>	<b>16,778</b>	<b>2,40</b>	<b>11,39</b>
F III	0,768	19,469	2,78	13,22
	0,808	20,614	2,94	13,99
	0,814	20,786	2,97	14,11
<b>rata-rata</b>	<b>0,797</b>	<b>20,290</b>	<b>2,90</b>	<b>13,77</b>
F IV	0,607	14,860	2,12	10,09
	0,610	14,946	2,14	10,15
	0,612	15,003	2,14	10,18
<b>rata-rata</b>	<b>0,610</b>	<b>14,936</b>	<b>2,13</b>	<b>10,14</b>
F V	0,576	13,972	2,00	9,49
	0,582	14,144	2,02	9,60
	0,586	14,259	2,04	9,68
<b>rata-rata</b>	<b>0,581</b>	<b>14,125</b>	<b>2,02</b>	<b>9,59</b>
F VI	0,538	12,884	1,84	8,75
	0,541	12,970	1,85	8,80
	0,544	13,056	1,87	8,86
<b>rata-rata</b>	<b>0,541</b>	<b>12,970</b>	<b>1,85</b>	<b>8,80</b>

Uji disolusi pada sediaan mikrokapsul bertujuan untuk mengukur dan mengetahui jumlah zat aktif yang terlarut dalam media cair yang diketahui volumenya pada suatu waktu tertentu menggunakan alat tertentu sehingga dapat digunakan untuk meramalkan kecepatan terlepasnya obat dari sediaan. Uji disolusi

dilakukan pada media dapar pH 7,4 selama 6 jam dengan pengambilan sampel sebanyak 11 kali yaitu pada menit ke- 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240, 300, dan 360. Pengujian disolusi hanya dilakukan pada formula yang memiliki efisiensi penjerapan tertinggi yaitu formula III.





Gambar 6. Grafik persen terdisolusi dalam dapar pH 7,4

Hasil pengujian disolusi menunjukkan bahwa persentase kadar polifenol yang terdisolusi semakin meningkat seiring dengan peningkatan waktu perlakuan disolusi dengan kadar puncak pada menit ke-60 kemudian menurun pada menit ke-90 dan mengalami peningkatan kembali pada menit-150. Hal ini terjadi karena pada sediaan mikrokapsul, pelepasan obat terjadi secara difusi yang pada prinsipnya ialah terjadinya perpindahan obat melalui bahan penghalang atau matriks.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak biji kakao dapat diformulasi menjadi bentuk sediaan mikrokapsul dengan menggunakan metode *Spray-Drying*.
2. Keenam formula mikrokapsul yang dihasilkan berbentuk bulat cekung (beragam) dengan diameter berada dalam kisaran 337-383  $\mu\text{m}$ . Mikrokapsul yang memiliki efisiensi penjerapan tertinggi pada penelitian ini adalah formula III, dengan persentase disolusi tertinggi pada menit ke-60.

#### 5. REFERENSI

Ansel H C. 2007. Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi. Terjemahan dari *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms* oleh Farida Ibrahim. Hal: 293-294

Arts IC, Hollman PC, Kromhout D. 1999. Chocolate as a source of tea flavonoids. di dalam Wan *et al*, *Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans*. USA: Am J Clin Nutr. Hal 596-602

Dreosti, I. E. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa and wine. di dalam Othman *et al*, *Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans*. Malaysia: Food Chemistry. Hal 1523-1530.

Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., & Schmitz, H.H. 2000. Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods. *Journal Nutrition*, 130; 2086S-2092S

Kim, H., & Keeney, P. G. 1984. (-) Epicatechin content in fermented and unfermented cocoa beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3693-3701.

Komisi Pengawas Persaingan Usaha. 2009. Background Paper Kajian Industri dan Perdagangan Kakao data dari *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Departemen Pertanian*, 2005. pp. 2

Lee Kw, Kim, Y.J., Lee, H.J., Lee, C.Y., (2003). Cocoa has more phenolic phytochemical and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 51; 7292-7295.

Lewerissa, M D. *Efek Ekstrak Biji Kakao Terhadap Aktivitas Immunoglobulin M (IgM) dan Immunoglobulin G (IgG) pada kelinci (Oryctolagus cuniculus)*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar. 2011. pp. 26-27.

Munin, Aude & Florence Edwards-Lévy. 2011. *Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review*. France: Pharmaceutical Journal ISSN 1999-4923. Hal 793-829

Ruzaidi, A., I. Amin , A.G. Nawalyah , H. Muhajir , M.B.S. Pauliena & M.S. Muskinah. 2007. *Hypoglycaemic Properties of Malaysian Cocoa (Theobroma Cacao) Polyphenols Extract*. Malaysia: Universiti Putra Malaysia. Hal 1-21.

Sugindro, Etik Mardiyati, & Joshita Djajadisastra. 2008. Pembuatan Dan Mikroenkapsulasi Ekstrak Etanol Biji Jinten Hitam Pahit (*Nigella Sativa* Linn.) di dalam *Majalah Ilmu Kefarmasian* Vol. V, No. 2. Hal 57 - 66

Suryani, Dinie & Zulfebriansyah. 2007. Komoditas Kakao: Potret dan Peluang Pembiayaan di dalam *Economic Review* No.210. pp.1

Wan, Ying., Joe A Vinson, Terry D Etherton, John Proch, Sheryl A Lazarus, & Penny M Kris-Etherton. 2001. *Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and prostaglandin concentrations in humans*. USA: Am J Clin Nutr 2001. Hal 596–602

Wollgast, J.; Anklam, E. Review on polyphenols di dalam *Theobroma cacao*: *Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification*. Food Res. Int. 2000, Hal 423-447.